

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21605

研究課題名(和文)機能性消化管障害の病態にシナプス接着分子がどのように関与するか

研究課題名(英文)How are synaptic adhesion molecules involved in functional gastrointestinal disorders?

研究代表者

有賀 純 (Aruga, Jun)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授

研究者番号：10232076

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文): LRR膜貫通タンパク質ファミリーのシナプス接着分子を欠損するマウスでは複数の系統で不安・うつ・感覚障害などの神経学的異常に加えて、原因不明の軽度の体重減少が起きる。「LRR膜タンパク質は神経系と消化管の機能的なつながり(脳腸相関)を制御しているのではないか」という仮説のもとに、LRR膜タンパク質欠損マウス群における消化管機能の異常探索、分子マーカー解析、LRR膜タンパク質の消化管における分子作用機序の解析を行った。LRR膜タンパク質欠損マウス群の体重変化、摂食行動および消化管機能に関するデータを取得することができ、仮説の検証に必要な新たな遺伝子改変マウスの作成に着手した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の完遂により、以下の点が期待できる。

(1) 脳腸相関の実体を分子レベルから、より良く理解することができる。(2) 機能性消化管障害の治療法改善に貢献できる。(3) 機能性消化管障害と不安・抑うつとの関係性について、新たな仮説を検証でき、新たな研究展開につながる。(4) この研究の過程で作成された遺伝子改変動物は成果発表後、公共の実験動物リソース維持機関で維持され、医学生物学研究に広く利用されるようになる。

研究成果の概要(英文): In our previous studies, we observed mild body weight loss in neuronal Leucine-rich repeat (LRR) proteins-deficient mice that show various neurological signs similar to anxiety, depression, and sensory dysfunction. In this study, we hypothesized that some LRR proteins are involved in regulating brain-gut interaction. Based on the hypothesis, we carried out detailed analysis on the function and molecular marker changes in LRR proteins-deficient mice. We collected critical data including the body weight changes in LRR protein-deficient mice, features of their feeding behaviors, and contractility of their intestines. To further verify above hypothesis, we started generating conditional knockout for some LRR protein-coding genes.

研究分野：神経生物学

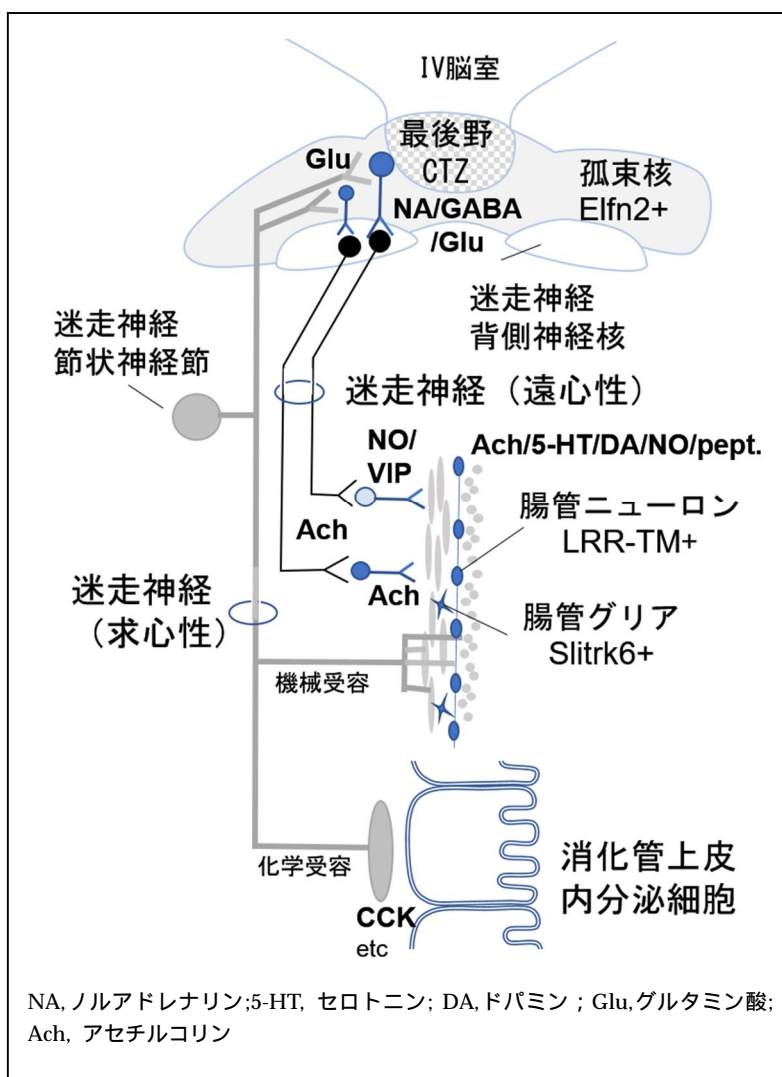
キーワード：機能性消化管障害 シナプス接着分子 機能性ディスペプシア 過敏性腸症候群 遺伝子改変マウス

1. 研究開始当初の背景

機能性消化管障害とは、慢性の腹部症状を呈するにもかかわらず、検査によって器質的疾患（がん、潰瘍など）が認められない機能性の消化器疾患群であり、機能性ディスペプシアや過敏性腸症候群が含まれる。一般成人における有病率はそれぞれ 10-44%、10-15%と高い。病態にはゲノム、消化管運動異常、内臓知覚過敏、粘膜透過性、腸内細菌、心理社会的因子などが関与し、これらを総合的に捉える概念として「脳腸相関」の重要性が明確になっているが、未だ不明な点が多い（日本消化器病学会、機能性消化管疾患ガイドライン 2014）。そこで本研究では中枢神経系と腸管神経系に発現するシナプス接着分子「LRR 膜貫通タンパク質群」に注目して、LRR 膜タンパク質欠損マウス群における腸管機能・腸管神経系の異常は系統的に解析した。

研究代表者らは、LRR 膜タンパク質が脳ではシナプス形成・機能維持や神経突起形成の制御に働き、LRR 膜タンパク質を欠損するマウスでは複数の系統で不安・うつ・感覚障害などの神経学的異常が見られることを報告した。一方、多くの系統で原因不明の軽度の体重減少が起きる。さらに脳腸相関を司る神経回路で重要な役割を果たすことが知られているノルアドレナリン、セロトニン、ドパミンなどを含むモノアミン系の神経伝達制御が LRR 膜貫通タンパク質に共通した役割であることが分かってきた。

研究代表者らは LRR 膜タンパク質の遺伝子を同定・命名・機能解析した<sup>1,3,4,5,8,9</sup>。更に、系統的に遺伝子欠損マウスを作成し、行動解析を行った<sup>2-9</sup>。現時点で、これらの動物群と行動解析データを保有している研究室はおそらく世界でも研究代表者の研究室のみである。また、複数の系統に共通する表現型として、脳のモノアミン含量の異常を見いだした<sup>2,未発表</sup>。一部の系統で、LRR 膜タンパク質がモノアミン性線維の発達を制御することも見いだした(投稿準備中)。



これらから、「LRR 膜タンパク質によるモノアミン動態制御は脳腸相関を制御する神経回路（右図）にも関与するのではないか」との作業仮説を得た。

## これまでの業績：

- (1) Aruga et al., *MCN*. 24, 117 (2003)
- (2) Katayama et al., *Mol Psychiatry* 15, 177 (2010)
- (3) Takahashi et al. *Nat. Neurosci* 15, 389. 2012
- (4) Katayama et al., *PLoS One*. 4, 7786 (2009)
- (5) Tekin et al., *JCI* 123,2094. (2013)
- (6) Matsumoto et al., *PLoS One* 6, 16497 (2011)
- (7) Takashima et al., *PLoS One*. 6, 22716 (2011)
- (8) Morimura et al. *Nat Commun* 8, 15800. (2017)
- (9) Tomioka et al. *Nat Commun* 5, 4501. (2014)

## 2 . 研究の目的

本研究では機能性消化管障害の病態に LRR 膜タンパク質がどのように関与するのかを明らかにすることを目的とした。

## 3 . 研究の方法

- (1) LRR 膜タンパク質欠損マウス群における消化管機能の異常探索。消化管機能の検査は網羅的に行い、興味深い系統について、ストレス刺激に対する消化管の反応性を検討する。解析には、伸展刺激と腸管内圧測定を用いる。
- (2) LRR 膜タンパク質欠損マウス群における消化管の分子マーカー解析。1 .の解析で機能的な異常が認められた系統については、LRR 膜タンパク質欠損マウス消化管で、ChAT、NOS、NET、DAT、各 LRR 膜タンパク質など分布を検討する。適切な発生段階に遡り、腸管神経系の発生障害の可能性を検討する。
- (3) LRR 膜タンパク質の消化管における分子作用機序。上の解析を基に腸管神経系の発生または機能制御に役割を持つ可能性のある LRR 膜タンパク質を絞り、その分子機能について、仮説を立て、以下の点について検討する。(a)結合タンパク質の探索。(b)野生型もしくは変異型 LRR 膜タンパク質の異所性発現の影響評価。(c) ノルアドレナリン、ドパミン、アセチルコリンの動態評価。

## 4 . 研究成果

LRR 膜貫通タンパク質欠損マウス群を対象とした体重の精査を行ったところ、対象とした 12 系統中 9 系統で 4-30%の有意な体重減少を認めた。一部の系統について、摂食行動を定量的に把握するために、定量可能な小型粒状餌と自動給餌装置等を利用して解析した。また、マグヌス管を利用した腸管機能解析を行った。その結果、一部の LRR 膜タンパク質は摂食ないし消化管の機能に重要な役割を持つことがわかったため、腸管神経叢と摂食中枢の分子マーカー解析を行って、神経回路レベルでの異常がどこにあるのかを明らかにしようとした。しかし、研究の対象としている遺伝子改変動物が遺伝子全欠損を伴うものであり、個別の神経回路を対象とした研究を進めるには限界があると考えられた。そこで、新たに複数の系統の条件変異マウスの作成に着手した。また、条件的変異の作成に必要な複数のトランスジェニックマウス系統を海外のマウスリソース維持施設より導入した。自律神経系および腸管神経系の活動性の解析に必要なバイオセンサー(GCaMP6, GRAB-NE1, -DA, -ACh など)を導入し、それらの機能を評価する予備実験を行った。これらを利用したアッセイ系、新たに作成される条件変異マウスを用いて、現在までに得られている作業仮説を検証する

予定である。

この研究の過程で作成された遺伝子改変動物は成果発表後、公共の機関で維持され、広い分野での医学生物学研究に利用される。本研究の完遂により、脳腸関連の実体を分子レベルから理解するとともに、機能性消化管障害の治療法改善に貢献できる。機能性消化管障害と不安・抑うつとの関係性について、新たな仮説を検証できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Matsunaga H, Aruga J	4. 巻 15
2. 論文標題 Trans-Synaptic Regulation of Metabotropic Glutamate Receptors by Elfn Proteins in Health and Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Neural Circuits	6. 最初と最後の頁 634875
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncir.2021.634875	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Maekawa R, Muto H, Hatayama M, Aruga J	4. 巻 16
2. 論文標題 Dysregulation of erythropoiesis and altered erythroblastic NMDA receptor-mediated calcium influx in Lrln2-deficient mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0245624
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0245624	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Ichise Misato, Sakoori Kazuto, Katayama Kei-ichi, Morimura Naoko, Yamada Kazuyuki, Ozawa Hiroki, Matsunaga Hayato, Hatayama Minoru, Aruga Jun	4. 巻 15
2. 論文標題 Leucine-Rich Repeats and Transmembrane Domain 2 Controls Protein Sorting in the Striatal Projection System and Its Deficiency Causes Disturbances in Motor Responses and Monoamine Dynamics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 856315
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnmol.2022.856315	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Watanabe Daisuke, Nakagawa Shinsuke, Morofuji Yoichi, Toth Andrea E., Vastag Monika, Aruga Jun, Niwa Masami, Deli M?ria A.	4. 巻 13
2. 論文標題 Characterization of a Primate Blood-Brain Barrier Co-Culture Model Prepared from Primary Brain Endothelial Cells, Pericytes and Astrocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1484 ~ 1484
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pharmaceutics13091484	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Katayama, K., Morimura, N., Kobayashi, K., Corbett, D., Okamoto, T., Ornthalai, V.G., Matsunaga, H., Fujita, W., Matsumoto, Y., Akagi, T., Hashikawa, T., Yamada, K., Murphy, N. P., Nagao, S., Aruga, J.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Slitrk2 deficiency causes hyperactivity with altered vestibular function and serotonergic dysregulation.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Fujita W, Aruga J.
2. 発表標題 Regulation of receptor chaperone molecule RTP4 in neuronal cells by opioid receptor activation.
3. 学会等名 The 94th Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>ホームページ等 「シナプス接着分子」の赤血球を産み出す細胞における役割 <a href="https://www.med.nagasaki-u.ac.jp/phrmch1/recent12.html">https://www.med.nagasaki-u.ac.jp/phrmch1/recent12.html</a></p>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------